*Evo M-MLV*反转录预混型示踪试剂盒（含去除gDNA试剂，用于qPCR，黄色）

Evo M-MLV RT Mix Tracking Kit with gDNA Clean for qPCR (Yellow)

Code No. AG11734

包装量：	100 rxns / 20 μl
保存温度：	−20 ℃

➢ 产品概述

本产品是利用 *M-MLV* 反转录聚合酶的反转录试剂盒，cDNA 产物可直接用于 qPCR 检测。本产品中 5X gDNA Clean Reaction Mix 可去除残留的基因组 DNA，保证定量结果的准确性；5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）含有黄色染料，能实现反转录移液可视化，避免漏加试剂，且该试剂包含反转录反应所需的所有组分，优化的体系，使反转录产物兼容嵌合法和探针法 qPCR 分析，能够进行高效的基因表达分析。

5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）含有黄色染料，反转录获得的 cDNA 呈现黄色，可搭配不同定量试剂使用：

① 可以搭配添加了蓝色染料的 SYBR Green Premix *Pro Taq* HS qPCR Tracking Kit（Code No. AG11733）使用，避免移液错误，实现模板移液过程可视化：将本产品反转录获得的 cDNA（黄色）加入至蓝色的 qPCR 反应液中，溶液会变成绿色，可根据颜色变化确认是否添加模板，有利于大量样品的加样，减少了误操作概率。

② 可搭配本公司其他的定量试剂使用【如 SYBR Green Premix *Pro Taq* HS qPCR Kit（Code No. AG11701）】，当黄色 cDNA 加入至无色定量试剂中，会变成浅黄色，可实现移液可视化。但若 cDNA 原液加入量较少，颜色变化不明显，可能会无法辨别。

③ 其他公司定量产品搭配本品使用性能未经验证，如需使用，请先测试性能。

➢ 保存及运输

保存温度：−20℃保存

运输温度：干冰运输或者−20℃冰袋运输

➢ 产品组成

5X gDNA Clean Reaction Mix	200 μl
5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）*1	400 μl
RNase free water	1 ml x 2 pcs

*1：含有 *Evo M-MLV* RTase、RNase Inhibitor、dNTPs、Oligo dT (18T) Primer、Random 6 mers Primer 和黄色染料。

➢ 注意事项

1. 5X gDNA Clean Reaction Mix 与 5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）甘油浓度较高，使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液枪轻轻吸打混匀，过程中尽量避免起泡，然后再进行使用。
2. 需要几个样本同时进行检测时，应先配制各种试剂的混合液，然后分装到每个反应管中。
3. 所有反应混合液需要在冰上配制。
4. cDNA 产物适用于定量 PCR 反应，不适用于长片段基因调取，如有长片段扩增需要，可使用本公司其他相关产品。
5. **由于反转录得到的 cDNA 产物中可能含有残留的 RNA 模板、未耗尽的反转录引物、残存的 dNTPs 及反应 buffer 中盐离子等均会影响浓度测定，从而导致测定的 cDNA 浓度不准确，因此反转录得到的 cDNA 不建议使用 Nanodrop 等设备测定浓度。**

➢ 实验操作

使用本产品进行反转录时主要包括 2 个步骤：去除基因组 DNA、反转录反应。

1）去除基因组 DNA

按照下表在冰上配制反应液，进行基因组 DNA 去除反应：

组分名称	加入量
5X gDNA Clean Reaction Mix	2 μl
Total RNA*1	–
RNase free water	up to 10 μl

反应条件：42 ℃ 2 min
4 ℃*2 Hold *2

*1：RNA 量可根据需要添加。在 20 μl 反转录体系中，使用 SYBR 法进行 qPCR 扩增时，建议最多使用 1 μg total RNA；使用探针法进行 qPCR 扩增时，建议最多使用 2 μg total RNA。

*2：反应产物取出后置于冰上，待**步骤 2）**预混液配制完成后立即加入至上述反应产物中，进行后续反转录反应。

2）反转录反应

按照下表在冰上配制反应液，置于 PCR 仪进行反转录反应。

组分名称	加入量
步骤 1）反应液	10 μl
5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）*1	4 μl
RNase free water*1	6 μl
Total	20 μl*2

反应条件：37 ℃ 15 min
85 ℃ 5 sec
4 ℃*3 Hold *3

*1：如果样本量大，配制反转录反应时，这两种溶液可以预先配制成 Master Mix，再分装 10 μl 到上述**步骤 1）**的 10 μl 反应液中，轻轻混匀后进行反转录反应；也可将 5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix（Yellow）及 RNase free water 分别添加至上述**步骤 1）**的 10 μl 反应液中。

*2：反转录反应体系可以根据需要相应调整。

*3：若反应产物立即用于后续 qPCR 反应，可暂放于 4℃ 或冰上；如短期保存建议放置于 −20℃；如需长期保存建议放置于 −80℃。

3）定量PCR反应

从**步骤 2）**得到的反应液可直接用于后续定量 PCR 反应，其加入量不要超过定量 PCR 反应体积的 1/10 (V/V)。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.